

# 中国芒 (*Miscanthus sinensis*) 种质资源 SSR 标记 遗传多样性分析

肖亮, 薛德, 蒋建雄, 艾辛, 覃静萍, 陈智勇, 刘树玲, 易自力

(湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128)

**摘要:** 利用 33 对 SSR 引物对来自中国 16 个省的 46 份野生芒 (*Miscanthus sinensis*) 种质进行遗传多样性分析。结果显示: (1) 33 对 SSR 引物共扩增出 87 条 DNA 条带, 75 条为多态性条带, 占 86.21%, 条带大小范围 80~310 bp; (2) 遗传多样性参数分析结果: Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 变幅为 0.020~1.522, 平均 0.745, 引物多态性信息含量 ( $PIC$ ) 变幅为 0.040~0.738, 平均 0.445, 遗传相似系数 ( $GS$ ) 的变幅为 0.315~0.933, 平均 0.569, 说明我国芒种质资源遗传基础宽, 遗传多样性丰富; (3) 相似系数 UMPGA 聚类结果与主成分分析 (PCA) 结果一致, 可将 46 份种质分为 3 大族群, 族群 I 主要由中部芒组成, 族群 II 主要由北方芒组成, 族群 III 主要由南方芒组成, 西南芒在每个族群中均有渗透, 这一结果说明芒种质资源的遗传分化与其种源的地理分布有一定的相关性, 但与地理起源不能完全吻合。

**关键词:** 芒; 种质资源; SSR 标记; 遗传多样性

## Genetic Diversity in *Miscanthus sinensis* of China Revealed by Simple Sequence Repeats DNA Markers

XIAO Liang, XUE De, JIANG Jian-xiong, AI Xin, QIN Jing-ping, CHEN Zhi-yong, LIU Shu-ling, YI Zi-li

(College of Bioscience & Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

**Abstract:** In order to study the genetic diversity of *Miscanthus sinensis* from China, 46 collections of *M. sinensis* from 16 provinces were analyzed by the simple sequence repeats (SSR) markers. The results show that 33 SSR primer pairs produced 87 bands with 75 polymorphic loci (86.21%) and the size of amplified DNA varied from 80 to 310bp. Shannon diversity index ( $I$ ) is 0.020-1.522, with a mean of 0.745. Polymorphic information content ( $PIC$ ) is about 0.040-0.738, with a mean of 0.445. Genetic similarity coefficient is about 0.315-0.933, with a mean of 0.569. UPGMA and PCA Cluster analysis indicated that 46 collections of *M. sinensis* were clustered into 3 groups. Group I was mainly composed of the germplasm from north China, group II composed of those from center China, and group III composed of those from south China. But some collections from southwest of China were divided into the above three groups. These results indicated that there was some relationships between *M. sinensis* varieties and geographical distribution, but not all varieties coincided with geographic origin.

**Key words:** *Miscanthus sinensis*; germplasm; SSR makers; genetic diversity

芒 (*Miscanthus sinensis* Andersson) 隶属于禾本科 (Poaceae) 芒属 (*Miscanthus* Andersson), 为多年生高大草本。就世界范围来说, 向北延伸近北极区的俄罗斯岛屿、向南延伸至亚热带的日本诸岛。在我国主要分布于安徽、江苏、浙江、江西、湖南、湖北、陕

西、河南、福建、台湾、广东、海南、广西、贵州、云南、吉林、辽宁等省, 遍布于海拔 1800m 以下的山地、丘陵和荒坡原野, 秆纤维用途较广, 早先用作工业造纸原料<sup>[1-2]</sup>。近年来, 生物质能源被认为是最具利用前景的可再生能源, 而芒具有生物量大、纤维素含量

收稿日期: 2012-02-05 修回日期: 2012-05-04 网络出版日期:

URL:

基金项目: 国家自然科学基金 (30971832); 美国孟德尔生物技术公司合作项目 (SR0373)

作者简介: 肖亮, 博士研究生, 研究方向为芒属能源植物遗传育种。E-mail: xiaoliang\_1979@yahoo.cn

通信作者: 易自力, 博士, 教授。研究方向: 芒属能源植物开发与利用。E-mail: yizili889@163.com

较高、灰分含量低、耐逆性强等特点,成为极具开发价值的高效能源植物<sup>[3-4]</sup>。

目前,关于芒(*M. sinensis*)的研究主要集中在形态学分类<sup>[5]</sup>、生态适应性<sup>[6]</sup>、生理特性<sup>[7]</sup>、种质抗逆性<sup>[8]</sup>、引物标记开发<sup>[9-10]</sup>以及遗传图谱构建<sup>[11]</sup>和基因定位<sup>[12-14]</sup>等方面,国外早期的研究表明 AFLP、RFLP 和 SSR 标记能够用于芒属植物的遗传多样性分析<sup>[15-16]</sup>。中国虽然是芒的分布中心,有着丰富的种质资源,但因缺乏相关遗传基础方面的研究而阻碍了对该类重要能源植物的开发与利用。因此,本研究利用 SSR 分子标记对采自中国 16 个省的 46 份野生芒种质的遗传多样性进行分析,旨在初步了解我国芒种质的遗传变异度、分布特点以及与地理来源的关系,为该类种质资源的评价和育种利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试样品为采自中国 16 个省的 46 份芒种质资源,材料具体信息见表 1。试验材料均保存于湖南农业大学芒属植物种质资源圃。

表 1 研究所用的芒种质资源

Table 1 The tested *Miscanthus sinensis* germplasms in this study

代号	编号	原始采集地	经度(E°)	纬度(N°)	海拔(m)
Code	PlotNo.	Origin collection site	Longitude	Latitude	Altitude
1	D0309	安徽省黄山市	118.23	30.12	412
2	D0641	安徽省泾县	118.45	30.58	156
3	D0502	安徽省金寨县	115.74	31.19	601
4	D0430	福建省大田县	117.83	26.39	400
5	B0612	福建省上杭县	116.85	25.34	1207
6	D0437	福建省永安市	117.53	26.78	441
7	D0429	福建省永春县	117.94	25.52	746
8	C0532	广东省博罗市	114.36	23.34	79
9	D0222	广东省韶关市	113.60	24.79	20
10	D0225	广东省阳东县	112.00	21.88	30
11	C0536	广东省珠海市	113.59	22.26	5
12	C0542	广西省防城港市	108.31	21.67	0
13	D0328	广西省桂平市	110.30	23.46	63
14	B0338	广西省环江县	107.99	25.07	443
15	C0501	广西省柳州市	109.68	24.26	75
16	C0410	广西省南丹县	107.36	24.90	252
17	C0322	广西省凭祥市	109.98	24.19	167
18	C0507	广西省田林县	106.40	24.49	1625

表 1(续)

代号	编号	原始采集地	经度(E°)	纬度(N°)	海拔(m)
Code	PlotNo.	Origin collection site	Longitude	Latitude	Altitude
19	D0331	广西省武鸣县	108.32	23.18	113
20	A0311	广西省玉林市	109.86	22.56	887
21	C0404	贵州省荔波县	108.09	25.26	437
22	C0616	贵州省清镇市	106.47	26.56	1480
23	C0123	海南省琼中县	109.90	19.14	263
24	B0433L	河南省栾川县	111.96	33.74	1065
25	A0445	河南省新县	114.88	31.73	88
26	D0316	湖北省黄石县	115.04	30.21	60
27	D0318	湖北省罗田县	115.68	31.12	320
28	A0603	湖南省常德市	111.750	29.12	106
29	B0636	湖南省宜章县	112.58	25.20	328
30	B0631	湖南省石门县	110.64	29.97	1170
31	B0501	湖南省通道县	109.78	26.15	382
32	D0124	江西省上饶市	117.80	28.45	90
33	B0607	江西省萍乡市	113.92	27.45	1900
34	C0432	辽宁省鞍山市	123.18	41.07	205
35	B0509	辽宁省大连市	121.78	39.12	988
36	C0223	辽宁省新宾市	125.13	41.70	398
37	B0611	陕西省留坝县	106.81	33.69	1600
38	A0613	山东省日照市	119.56	35.41	0
39	C0624	四川省乐山市	103.55	29.45	528
40	C0631	四川省自贡市	104.76	29.34	430
41	A0410	云南省广南县	105.51	23.66	1173
42	A0414	云南省西畴县	105.00	23.40	1458
43	B0304	云南省麻栗坡县	105.17	23.36	1678
44	A0409	云南省西畴县	104.92	23.43	1412
45	D0120	浙江省青田县	120.27	28.16	50
46	D0135	浙江省云和县	119.66	28.23	119

### 1.2 试验方法

**1.2.1 叶片基因组 DNA 的制备** 每样品取健康嫩叶 1 g 左右,采用改良 CTAB 法<sup>[17]</sup>制备模板 DNA,琼脂糖凝胶电泳检测模板 DNA 的质量和浓度,工作液稀释至 20 ng/μl,4 °C 冷藏备用。

**1.2.2 PCR 扩增与产物检测** 试验中选用了本课题组筛选出的 33 对 SSR 引物进行多态性分析<sup>[18]</sup>。PCR 扩增在 Biometra Tgradient PCR 仪上进行,SSR-PCR 反应体系为 15 μl(含 1 × PCR buffer、MgCl<sub>2</sub> 2.5 mmol/L、Primer 各 0.4 μmol/L、dNTPs 0.2 μmol/L、模板 DNA 40 ng、Taq 酶 0.5 U),所用试剂均购自广州东盛生物技术有限公司。PCR 反应条件为:94 °C

预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,52 °C ~ 62 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,35 次循环;72 °C 延伸 7 min。PCR 产物经 6% ~ 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染显色后拍照。

**1.2.3 数据统计与分析** SSR 扩增带型以“0”和“1”统计,在相同迁移率位置上,有带记为“1”,无带记为“0”,构建“0,1”二元数列矩阵。统计 SSR 扩增的条带总数和多态性条带数,计算多态性位点百分率 (percentage of polymorphic bands, PPB),  $PPB = (NPB/TNB) \times 100\%$ , 式中 NPB (number of polymorphic bands) 为多态性条带数, TNB (total number of bands) 为扩增总条带数。采用 POPGENE version 1.31 软件包计算 Shannon's 信息指数 (Shannon's (1972) Information index,  $I$ ), 根据公式  $PIC = 1 - \sum (P_i)^2$  ( $P_i$  为第  $i$  种等位位点占总等位位点的比率) 计算 PIC 引物多态性信息含量 (polymorphism information content, PIC)。

采用 Jaccard 系数计算成对种质间遗传相似系数 (genetic similarity,  $GS$ ),  $GS(jk) = a/(a + b + c)$ , 其中  $a$  为  $j$  和  $k$  种质共有的位点数,  $b$  为  $j$  有而  $k$  无的位点数,  $c$  为  $k$  有而  $j$  无的位点数。

利用 NTSYS pc 2.1 软件包中的 SHAN 程序,以非加权类平均法 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) 进行聚类分析,并绘制相似系数树状聚类图和主成分分析 (principal coordinates analysis, PCA) 图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 引物多态性分析

多态性带数和百分率可以直接反映材料的多态性,同时也可以间接反映引物多样性信息量。本研究中所采用的 33 对 SSR 引物均能扩增出稳定清晰的 DNA 条带 (表 2), 33 对 SSR 引物共扩增出 87 条 DNA 条带, 每对引物扩增条带数 1 ~ 8 条, 平均每对引物扩增条带数为 2.64 条, 扩增条带大小范围为 80 ~ 310 bp。所有引物中, 编号 HAU-193 的引物扩增条带数最多, 为 8 条; 其次为 HAU-17 和 HAU-379, 均扩增出 5 条条带。在引物评价种质资源遗传多样性的方法中, 扩增条带数越多说明引物鉴别力越强, 因此, HAU-193、HAU-17 和 HUA-379 为鉴别能力最强的引物, 可作为种群内多样性鉴别的首选引物。在所有供试材料中具有多态性的引物共 29 对, 共扩增出多态性条带 75 条, 多态性条带比率 (PPB) 为 86.21%。

表 2 SSR 引物及其多态性分析

Table 2 SSR primers and polymorphism analysis

引物 编号 Primer	条带大小 (bp) Size	总条 带数 TNB	多态性 条带 NPB	多态性 比率 (%) PPB	Shannon's 信息指数 $I$	多态性信 息含量 $PIC$
HAU-2	140	1	1	100.00	0.086	0.172
HAU-3	140	1	0	0	-	-
HAU-10	90 ~ 95	3	2	66.67	0.692	0.499
HAU-12	80 ~ 90	3	3	100.00	1.067	0.653
HAU-17	240 ~ 300	5	5	100.00	1.370	0.688
HAU-18	170 ~ 180	2	2	100.00	0.303	0.164
HAU-20	120 ~ 125	2	2	100.00	0.690	0.497
HAU-32	100 ~ 110	3	3	100.00	0.947	0.569
HAU-45	140 ~ 170	4	4	100.00	1.325	0.724
HAU-47	130 ~ 145	4	4	100.00	1.133	0.620
HAU-52	140 ~ 160	4	4	100.00	1.137	0.637
HAU-58	125 ~ 135	3	3	100.00	0.196	0.078
HAU-60	100 ~ 110	2	2	100.00	0.551	0.365
HAU-101	290 ~ 310	4	3	75.00	1.243	0.676
HAU-130	125 ~ 135	3	2	66.67	0.960	0.567
HAU-139	120	1	0	0	-	-
HAU-170	95 ~ 120	4	3	75.00	1.113	0.653
HAU-182	130	1	1	100.00	0.039	0.078
HAU-187	120 ~ 130	2	1	50.00	0.693	0.500
HAU-193	120 ~ 180	8	8	100.00	1.522	0.738
HAU-196	140 ~ 150	2	1	50.00	0.593	0.403
HAU-205	130 ~ 150	3	2	66.67	0.944	0.570
HAU-252	150	1	0	0	-	-
HAU-310	90	1	1	100.00	0.020	0.040
HAU-348	130	1	1	100.00	0.067	0.135
HAU-351	90	1	1	100.00	0.020	0.040
HAU-372	110 ~ 125	3	3	100.00	0.731	0.405
HAU-379	175 ~ 295	5	5	100.00	1.314	0.710
HAU-383	200 ~ 250	2	2	100.00	0.669	0.476
HAU-384	170 ~ 290	4	3	75.00	1.118	0.599
HAU-414	150 ~ 170	3	2	66.67	1.034	0.624
HAU-452	200	1	0	0	-	-
HAU-456	80	1	1	100.00	0.020	0.040
总和 Total	-	87	75	86.21	-	-
平均 Mean	-	-	-	-	0.745	0.445

引物多态性信息含量 ( $PIC$ ) 范围为 0.040 ~ 0.738, 平均为 0.445。  $PIC$  的变异系数 ( $CV$ ) 较大, 达到 54.21%, 说明不同引物反映出的遗传多样性

程度的差别较大。按照 Botstein 等<sup>[19]</sup>提出的衡量基因变异程度高低的指标:当  $PIC > 0.5$  时,该基因座为高度多态基因座, $PIC$  介于  $0.25 \sim 0.50$  时为中度多态基因座, $PIC < 0.25$  时为低度多态基因座,29 对具体多态性的引物中处于高度多态位点的引物 15 对,处于中度多态位点的引物 7 对,处于低度多态位点的引物 7 对。其中,引物 HAU-193 的  $PIC$  最大,达到 0.738,引物 HAU-310、HAU-351 和 HAU-456 的  $PIC$  最小,仅为 0.040,Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 变幅为  $0.020 \sim 1.522$  之间,平均为 0.745,表明 46 份芒种质间遗传分化大。

## 2.2 遗传相似性及聚类分析

利用 75 个具有多态性的位点计算 46 份芒野生种质两两间的 Jaccard 遗传相似系数,GS 的变化范围为  $0.315 \sim 0.933$ ,平均相似系数为 0.569,经检验符合正态分布。其中 34 号材料(辽宁鞍山)和 36 号材料(辽宁新宾)之间相似性最大( $GS = 0.933$ ),说明它们的遗传基础最近;而 9 号材料(广东韶关)和 24 号材料(河南栾川)之间的相性最小( $GS = 0.315$ ),说明这 2 份材料遗传基础最远。

根据 Jaccard 遗传相似系数进行 UPGMA 聚类分析,结果如图 1 所示,33 对引物可以将 46 份种质资源划分成 3 大类群。其中第 I、II 类群均由 18 份材料组成,第 III 类群由 10 份材料组成。从材料的来源来看,类群 I 的 18 份材料分别由 4 份湖南(28 ~ 31)、2 份湖北(26 ~ 27)、2 份江西(32 ~ 33)、3 份安徽(1 ~ 3)、2 份浙江(45 ~ 46)、1 份广西(17)、3 份云南(41,43 ~ 44)和 1 份广东(11)材料构成,类群 II 由 3 份辽宁(34 ~ 36)、1 份陕西(37)、1 份山东(38)、2 份河南(24 ~ 25)、4 份广西(12 ~ 14,18)、1 份云南(42)、2 份贵州(21 ~ 22)、2 份四川(39 ~ 40)和 1 份广东(8)材料构成,类群 III 则由 2 份广东(9 ~ 10)、4 份福建(4 ~ 7)、1 份海南(23)和 3 份广西(15 ~ 16,19)材料构成。从供试材料的地区来源来看,第 I 类群中,除 1 份广东芒以外,可归为华中芒、华东芒与西南芒的混合组,第 II 类群除 1 份广东芒外,可归为东北芒、西北芒与西南芒的混合组,第 III 类群可归为华南芒与西南芒的混合组。因此,从聚类主要构成成分来看,来源于我国华中、华东芒聚为一类,暂命名为中部芒类群(类群 I);来源于东北、

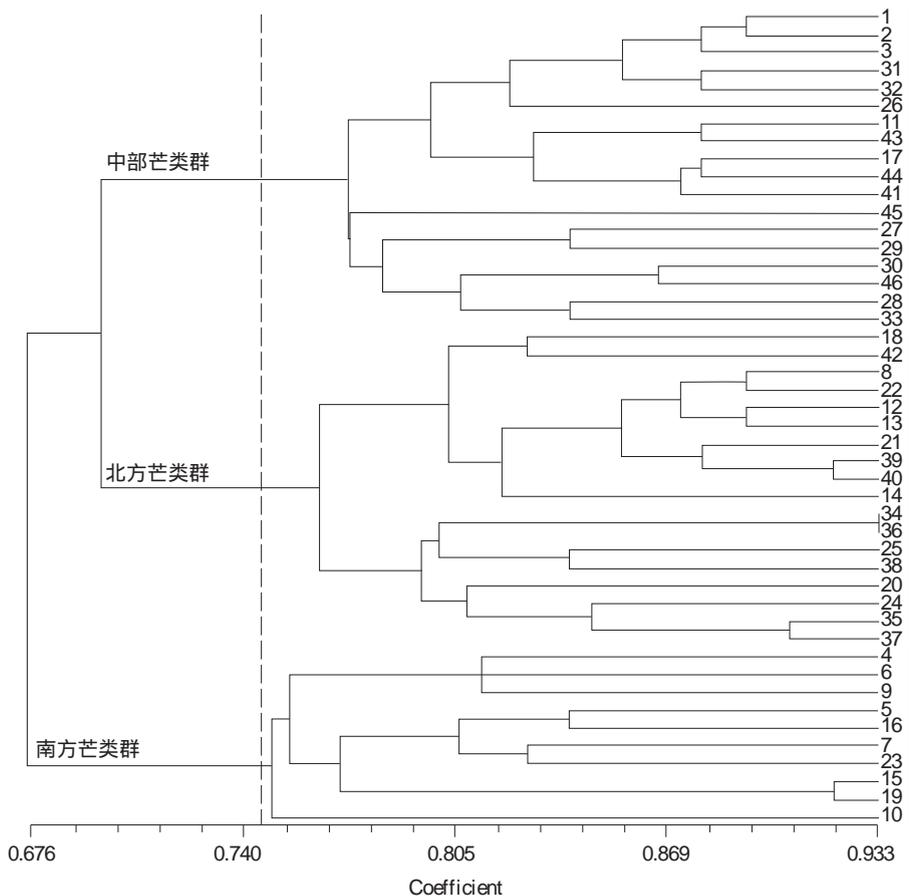


图 1 基于遗传相似性系数的 UPMGA 树状聚类图

Fig. 1 Dendrogram based on coefficient of similarity

西北和华北的芒聚成一类,暂命名为北方芒类群(类群 II);来源华南的芒聚为一类,暂命名为南方芒类群(类群 III)。从聚类的整体趋势看来,33 对 SSR 引物能将来自我国北方、中部和南方的芒种质资源区分开,但每个类群中都不同程度地混杂了来自广东、广西、贵州、云南和四川等 5 省的芒。这说明芒种群内的遗传关系有一定的地理区域特征,但与地理起源不能完全吻合。

对遗传相似系数的矩阵进行主成分分析,结果

见图 2。第 1、2 主成解释变异的贡献率最高,分别为 16.52% 和 13.46%。每份材料在第 1、2 主成分中的因子得分决定了该材料所处的平面位置,位置相近的材料归为一类。群体 I 的 18 份材料在第 1、2 主成份中得分均高,群体 II 的 18 份材料在第 1 主成分中得分低,而在第 2 主成分中得分高,群体 III 的 10 份材料则第 1 主成分中得分中等,但在第 2 主成分中得分低。主成分聚类结果与遗传系数聚类结果完全一致。

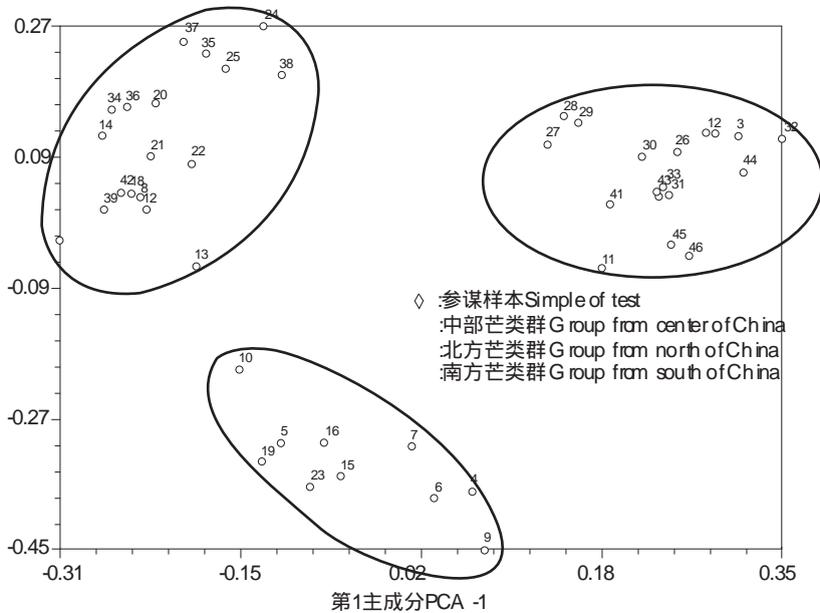


图 2 基于主成分分析的二维坐标图

Fig. 2 Two-dimension based on PCA

### 3 讨论

#### 3.1 SSR 标记在芒属植物中的识别能力

1995 年 Fitzslunons 等<sup>[20]</sup>用 6 对海龟 SSR 标记在淡水龟中进行扩增,证明 SSR 引物序列在相近物种间具有一定的保守性。近年来,多项研究也表明 SSR 标记在种内不同种质资源或不同品种间也具有较好的鉴别能力<sup>[21-24]</sup>。本课题组利用 SSR 引物对芒属内不同种间进行多样性分析,结果表明 SSR 引物可用作芒属内不同种群间的鉴别<sup>[25]</sup>。本试验研究结果表明,不同种质间的遗传相似系数  $GS$  平均值为 0.569,多态性信息含量  $PIC$  平均植为 0.445,Shannon's 信息指数 ( $I$ ) 平均为 0.745,说明芒种质资源间的遗传变异较大,遗传多样性丰富,同时也证明 SSR 引物也可在同一种群内不同种质资源间进行鉴别。

#### 3.2 聚类分析

谢文刚等<sup>[26]</sup>关于鸭茅 (*Dactylis glomerata*) 和苏

东等<sup>[27]</sup>关于苜蓿 (*Medicago falcata*) 以及刘新龙等<sup>[28]</sup>关于滇蔗茅 (*Erianthus rockii*) 种质遗传多样性研究均得出,种质资源的遗传分化与地理起源具有一定的相关性。本研究结果也表明芒 (*M. sinensis*) 遗传分化与地理起源有一定的相关性,即地理来源一致的种质资源聚为一类。究其原因可能与芒是专性异花授粉植物的特性有关,对于异花授粉的植物而言,若无高山、水系等地理因素隔离的前提下,同一种群之间的基因交流会比自花授粉的植物相对频繁。结合我国主要山脉分布情况,北方芒类群处于秦岭及延迟线以北,南方芒类群位于南岭以南,中部芒类群则位于秦岭以南、南岭以北以及巫山、雪峰山一线以东的区域,这一自然山脉地理格局与芒的分类群体基本吻合。目前,除 SSR 标记外,RFLP、AFLP 和 SRAP 等标记亦被用于芒属植物遗传多样性研究<sup>[9-10,16]</sup>。因此,本研究认为增加现有标记数量和类型,以及加大参试样本数,是分析芒属能源植

物遗传多样性后续研究的重要途径。

### 参考文献

- [1] 陈守良. 中国植物志: 禾本科(五) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 4-26
- [2] 刘亮, 朱明, 朱太平. 芒荻类植物资源的开发和利用 [J]. 自然资源学报, 2001, 6(16): 562-563
- [3] Lewandowski I, Clifton-Brown J C, Scurlock J M O, et al. *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop [J]. *Biom Bioenerg*, 2000, 19: 209-227
- [4] John C, Clifton-Brown J C, Paul F, et al. *Miscanthus* biomass production for energy in Europe and its potential contribution to decreasing fossil fuel carbon emissions [J]. *Glob Chang Biol*, 2004, 10: 509-518
- [5] Sun Q, Lin Q, Yi Z L, et al. A taxonomic revision of *Miscanthus s. L.* (Poaceae) from China [J]. *Botan J Linnean Soci*, 2010, 164: 178-220
- [6] Yan J, Chen W L, Luo F, et al. Variability and adaptability of *Miscanthus* species evaluated for crop domestication [J]. *GCB Bioenerg*, 2012, 4: 49-61
- [7] 焦树英, 徐家林, 李红利, 等. 芒草对 NaCl 和 PEG 胁迫的生理响应及相关性分析 [J]. 中国草地学报, 2010, 32(5): 21-26
- [8] 宗俊勤, 陈静波, 聂东阳, 等. 我国不同地区芒和荻种质资源抗盐性的初步评价 [J]. 草地学报, 2011, 19(5): 803-807
- [9] 胡小虎, 刁英, 郑兴飞, 等. 芒 AFLP 反应体系的建立 [J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 34(3): 10-14
- [10] 胡小虎, 刁英, 郑兴飞, 等. 能源植物芒的 SRAP 分子标记体系建立与优化 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(22): 58-61
- [11] Atienza S G, Satovic Z, Petersen K K, et al. Preliminary genetic linkage map of *Miscanthus sinensis* with RAPD markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 946-952
- [12] Atienza S G, Satovic Z, Petersen K K, et al. Identification of QTLs associated with yield and its components in *Miscanthus sinensis* Anderss [J]. *Euphytica*, 2003, 132: 353-361
- [13] Atienza S G, Satovic Z, Petersen K K, et al. Identification of QTLs influencing agronomic traits in *Miscanthus sinensis* Anderss. I. Total height, flag-leaf height and stem diameter [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 123-129
- [14] Atienza S G, Satovic Z, Petersen K K, et al. Identification of QTLs influencing combustion quality in *Miscanthus sinensis* Anderss. II. Chlorine and potassium content [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 857-863
- [15] Greef G M, Deuter M, Jung C, et al. Genetic diversity of European *Miscanthus* species revealed by AFLP fingerprinting [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 1997, 44: 185-195
- [16] Hernández P, Dorado G, Laurie D A, et al. Microsatellites and RFLP probes from maize are efficient sources of molecular markers for the biomass energy crop *Miscanthus* [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 616-622
- [17] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull Bot Soci Am*. 1987, 19: 11-15
- [18] 钟智林. 中国华南地区芒属植物遗传多样性的 SSR 分析 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009
- [19] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314-331
- [20] Fitzslunons N N, Moritz C, Moore S S. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution [J]. *Mol Biol Evol*, 1995, 12(3): 594-603
- [21] 陆苏瑾, 俞明亮, 马瑞娟, 等. 硬肉桃品种群 SSR 标记的遗传多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(3): 374-379
- [22] 李书柯, 江川, 王金英. 用 SSR 标记分析福建漳浦野生稻的遗传多样性 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 75-79
- [23] 赵香娜, 岳美琪, 刘洋, 等. 国内外甜高粱种质遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(4): 407-412
- [24] 朱学海, 张艳红, 宋燕春, 等. 基于 SSR 标记的谷子遗传多样性研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 698-702
- [25] 钟智林, 蒋建雄, 杨璐, 等. 玉米 SSR 引物在芒属植物遗传多样性分析的应用研究 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(11): 2076-2078
- [26] 谢文刚, 张新全, 马啸, 等. 中国西南区鸭茅种质遗传变异的 SSR 分析 [J]. 草业学报, 2009, 18(4): 138-146
- [27] 苏东, 周延林, 于林清, 等. 利用 SSR 分析中国北方野生黄花苜蓿种群的遗传多样性 [J]. 中国草地学报, 2010, 32(5): 85-89
- [28] 刘新龙, 蔡青, 毕艳, 等. 中国滇蔗茅种质资源遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 作物学报, 2009, 35(2): 262-269